

# PURIFICACION DE LA ACTIVIDAD ISOPENICILINA N EPIMERASA DE Streptomyces lactamdurans

L. Láiz, J.M. Castro, M. García-Domínguez, J.G. Calzada  
y P. Liras

Area de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad  
de León, León.

La isopenicilina N epimerasa (IPNE) es una enzima presente en microorganismos productores de cefalosporinas y cefamicinas. Es responsable del cambio de configuración de la cadena lateral del ácido L- $\alpha$ -aminoadípico de la isopenicilina N a su forma D, convirtiéndola así en penicilina N. Esta enzima es muy inestable tanto en Acremonium chrysogenum (1) como en Streptomyces clavuligerus (2), por lo que sólo ha sido parcialmente purificada. La IPNE de Streptomyces lactamdurans se ha purificado 88 veces mediante precipitación con sulfato amónico (30-50%), filtración en gel Sephadex G-75 y dos intercambios iónicos consecutivos en MONO Q-HPLC utilizando gradientes de Tris-HCl (25-250 mM). La enzima se estabiliza parcialmente con fosfato de piridoxal y no requiere ningún cofactor para su actividad. Su pH y temperatura óptimos son 7,0 y 25°C respectivamente. Su peso molecular calculado a partir de filtración en gel es  $52500 \pm 1000$ . Cuando se analizan en PAGE con 10% de poliacrilamida y SDS las fracciones más purificadas que presentan actividad IPNE, aparece en todas ellas una intensa banda correspondiente a un peso molecular de  $26000 \pm 1000$ , sin que se encuentren bandas significativas correspondientes a 52500. Por tanto existe la posibilidad de que la enzima sea un dímero.

(1) C. Lübke, S. Wolfe y A.L. Demain. Appl. Microbiol. Biotechnol. (1986) 23:367-368.

(2) S.E. Jensen, D.W.S. Westlake y S. Wolfe. Can. J. Microbiol. (1983) 29:1526-1531.